

УДК 543.06:543.89

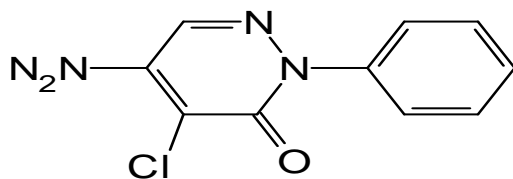
## ДОСЛІДЖЕННЯ УМОВ ВИЗНАЧЕННЯ ХЛОРИДАЗОНУ МЕТОДОМ ТОНКОШАРОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ

Мага І.М.<sup>1,2</sup>, Шарга Б.М.<sup>2,1</sup><sup>1</sup>Ужгородський національний університет, 88000, м. Ужгород, вул. Підгірна, 46<sup>2</sup>Ужгородська прикордонна державна контрольна-токсикологічна лабораторія, 88000, м. Ужгород, вул. Станційна, 56

Для підвищення ефективності сільського господарства широко використовують засоби захисту рослин [1 - 3], важливе місце серед яких посідають гербіциди. Разом з тим, вони є високотоксичними сполуками для людей та теплокровних тварин [4, 5]. Тобто, широке застосування гербіцидів і їх висока токсичність потребують всебічного контролю цих сполук у об'єктах навколишнього середовища [6, 7].

В роботі досліджувались умови визначення Хлоридазону (ХА), діючої речовини гербіцидного препарату "Пірамін Турбо", розробленого фірмою "BASF AG" (Леверкузен, Німеччина) [8]. Препарат застосовується як для обробки посівів столового та цукрового буряка [9].

Хімічна формула ХА має вигляд:



а хімічна назва препарату – 5-аміно-4-хлор-2-фенілпіридазин-3(2Н)-он. Препарат визначають методом газової хроматографії [10]. Однак, вказаний метод є досить дорогим, потребує складного апаратного забезпечення. Тому розробка нових доступних методів, що дозволяють проводити визначення з необхідною точністю, є актуальною. До таких методів відноситься, зокрема, тонкошарова хроматографія, що має широке застосування для визначення різних сполук та постійно розвивається [11 - 16].

В роботі досліджувались умови визначення ХА методом тонкошарової хроматографії.

### Експериментальна частина

Стандартний розчин ХА з концентрацією 100 мкг/мл готували розчиненням в ацетоні точної наважки аналітичного стандарту Хлоридазону фірми "BASF AG" (Леверкузен, Німеччина). Розчин зберігали в холодильнику до 1 місяця. Робочі стандартні розчини ХА меншої концентрації готували з основного стандартного розчину відповідним поступовим розведенням ацетоном в день використання.

Бромфеноловий синій, 0,5% розчин готували розчиненням відповідної наважки реактиву в ацетоні. Розчин AgNO<sub>3</sub>, 0,05% готували розчиненням відповідної наважки реактиву у водно-ацетоновому розчині та амоніаку. Калій перманганат, 1,5% розчин; 2% Цитратної к-ти; 1% Крохмалю та 1% 1-нафтиламіну готували розчиненням відповідної наважки реактиву в дистильованій воді. Всі вказані реагенти були кваліфікації х.ч. або ос.ч.

Органічні розчинники – Гексан, Дихлоретан, Хлороформ, Тетрахлоркарбон, Толуен, Етанол, Ацетон, Ацетатна кислота Етилацетат, Бутилацетат – використовували кваліфікації х.ч. Кислоти HCl, луги – NaOH, KOH використовували кваліфікації ч.д.а.

Концентрацію гідроген-іонів у розчинах контролювали за допомогою іоніміру ЕВ-74.

Розрахунок площ плям виконували скануванням хроматографічної пластинки та комп'ютерною обробкою даних за допомогою програми "ДенситоАналіз".

### Результати та їх обговорення.

Для підбору ефективного елюента досліджувались одно-, дво- та трикомпонентні суміші органічних розчинників, таких, як Гексан, Дихлоретан, Ацетон, Етилацетат, Етаноло та Ацетатна кислоти.

В результаті експериментальних досліджень встановлено, що елюенти 1-4 (табл. 1), які є двокомпонентними сумішами Гексан : Дихлоретан у наведених співвідношеннях, рухомі фази 5, 6, що є

трикомпонентними сумішами Гексан : Ацетон : Дихлоретан (табл. 1) та рухома фаза 9, що є трикомпонентною сумішшю Гексан : Дихлоретан : Етилацетат (табл. 1), не зрушили нанесеної плями з лінії старту. Рухомі фази 7, 8, (табл. 1), що є трикомпонентними сумішами Гексан : Ацетон : Дихлоретан та рухомі фази 10 – 12 (табл. 1), що є трикомпонентними сумішами - Гексан : Ацетон : Етилацетат - в незначній мірі відносять пляму ХА від лінії старту, тобто створюють низькі значення  $R_f$ . (табл. 1).

**Таблиця 1.** Підбір рухомої фази

№	Компоненти рухомої фази			Об'ємні співвідношення компонентів			$R_f$
	А	Б	В	А	Б	В	
1	Гексан	Дихлоретан	-	4	1	-	-
2	Гексан	Дихлоретан	-	2	1	-	-
3	Гексан	Дихлоретан	-	1	1	-	-
4	Гексан	Дихлоретан	-	1	2	-	-
5	Гексан	Ацетон	Дихлоретан	4	1	1	-
6	Гексан	Ацетон	Дихлоретан	4	2	1	-
7	Гексан	Ацетон	Дихлоретан	4	1	4	0,12
8	Гексан	Ацетон	Дихлоретан	2	1	1	0,10
9	Гексан	Дихлоретан	Етилацетат	4	1	1	-
10	Гексан	Дихлоретан	Етилацетат	2	4	1	0,14
11	Гексан	Дихлоретан	Етилацетат	1	1	4	0,17
12	Гексан	Дихлоретан	Етилацетат	2	2	1	0,15
13	Дихлоретан	Етилацетат	Етанол	1	2	2	0,97
14	Дихлоретан	Етилацетат	Етанол	5	5	1	0,95
15	Дихлоретан	Етилацетат	Етанол	2	2	1	0,93
16	Толуен	Етанол	Ацетатна кислота	1	2	2	0,96
17	Толуен	Етанол	Ацетатна кислота	5	5	1	0,91
18	Толуен	Етанол	Ацетатна кислота	5	2	1	0,78

Рухомі фази 13, 15, що є трикомпонентними сумішами Дихлоретан : Етилацетат : Етанол та рухомі фази 16, 17, що є трикомпонентними сумішами Толуен : Етанол : Ацетатна кислота у наведених співвідношеннях, навпаки, надзвичайно активні до досліджуваної сполуки і відносять пляму майже на лінію фінішу.

На основі експериментальних досліджень встановлено, що найефективнішим елюентом виявився елюент 18, що є трикомпонентна

суміш Толуен : Етанол : Ацетатна кислота у об'ємних співвідношеннях 5 : 2 : 1;  $R_f$  становить 0,78.

Для візуалізації плями проводився підбір проявників. В якості проявників використовували 1,5 % розчин Калію перманганату, пари Йоду + розчин Крохмалю, аміачний розчин Аргентуму нітрату + УФ-світло та 0,5 % розчин Бромфенолового синього + Лимонна кислота та 1% розчин 1-нафтиламіну (табл.2).

**Таблиця 2.** Підбір проявника

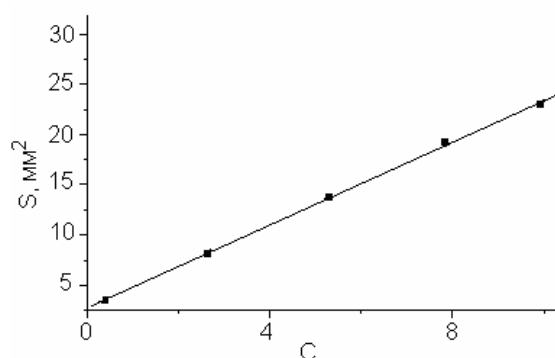
№ з/п	Проявник	Візуальний ефект	Стабільність	Діапазон визначення, мкг
1	1,5 % р-н $KMnO_4$	Білі плями на бурому фоні	2 - 3 год	16 - 27
2	Пари $I_2$ + р-н Крохмалю	Темно-коричневі плями на жовтому-бурому фоні	Стійкі 1-2 год	12 - 24
3	0,05 % аміачний розчин $AgNO_3$ + УФ-світло	Не спостерігається	-	-
4	0,5 % р-н Бромфенолового синього +2% на Лимонна кислота	Не спостерігається	-	-
5	1 - нафтиламін 1% р-н	Плями червоно кольору	24 год	0,4 - 11

При використанні в якості проявника розчину Калій перманганату проявляються білі плями на бурому фоні, лінійний діапазон залежності площі плями від концентрації ХА спостерігається в межах 16 – 27 мкг (табл. 2). Використання парів Йоду та розчину Крохмалю також показало слабку стійкість плями (1 – 2 год) та невисоку чутливість – 1 – 24 мкг (табл. 2). При використанні як проявників Аміачного розчину Аргентуму нітрату + УФ-світло та 0,5 %-ного розчину Бромфенолового синього + 2% Лимонної кислоти не спостерігається візуального ефекту проявлення.

Серед досліджених проявників найефективнішим виявився 1%-ний розчин 1-нафтиламіну. При цьому ХА проявляється у вигляді червоних плям на лимонно-жовтому фоні. Діапазон визначення складає 0,4 - 11 мкг (рис.1), плями стійкі на протязі 2-3 діб.

Досліджено умови вилучення ХА з водних розчинів гербіциду "Пірамін Турбо". В якості екстрагентів використовували Гексан, Дихлоретан, Хлороформ, Тетрахлоркарбон, Етилацетат та Бутилацетат. Встановлено, що

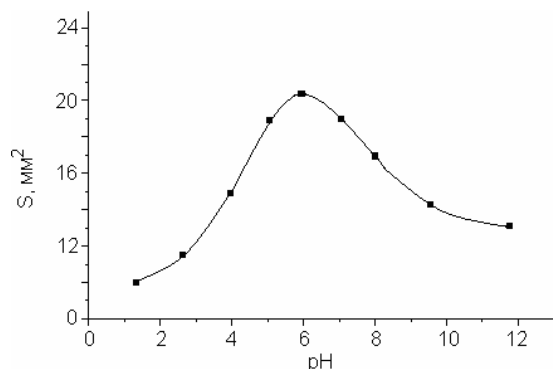
вилучення ХА в органічну фазу максимальне при використанні в якості екстрагента Хлороформу.



**Рис.1.** Залежність площі плями від концентрації Хлоридазону. Проявник 1% розчин 1-нафтиламіну. Рухома фаза: Толуен : Етанол : Ацетатна кислота = 5 : 2 : 1.

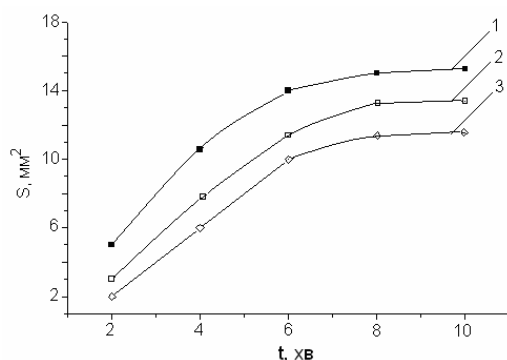
Одним з найважливіших факторів, що визначають рівновагу переведення ХА в органічну фазу є концентрація гідроген-іонів. Найбільш повне вилучення ХА

спостерігається в середовищах, близьких до нейтрального в межах рН 6-8 (рис.2).



**Рис.2.** Залежність повноти вилучення Хлоридазону від рН середовища. Проявник 0,5 % розчин Бромфенолового синього + 2 % Лимонна кислота. Проявник 1% розчин 1-нафтиламіну. Рухома фаза: Толуен : Етанол : Ацетатна кислота = 5 : 2 : 1. (об. + об. + об.). рН = 7.

Вивчено повноту вилучення ХА від часу екстракції. Встановлено, що максимальна повнота вилучення ХА спостерігається при струшуванні водної та органічної фази на протязі 8 хвилин. Найбільш повна екстракція спостерігається при здійсненні трикратної екстракції Хлороформом порціями по 100 мл. (рис.3). На основі одержаних даних розроблена методика визначення ХА у водах методом тонкошарової хроматографії.



**Рис.3.** Залежність повноти вилучення Хлоридазону від часу екстракції: 1 - однократна екстракція, 2 - двократна екстракція, 3 - трьохкратна екстракція. Проявник 1% розчин 1-нафтиламіну. Рухома фаза: Толуен : Етанол : Ацетатна кислота = 5 : 2 : 1. (об. + об. + об.). Екстрагент: Хлороформ; рН 7.

## Висновки

Досліджено умови визначення Хлоридазону методом тонкошарової хроматографії.

Як елюенти вивчено 18 рухомих фаз, які є дво- та трикомпонентними сумішами органічних розчинників. Підібрано проявник для ХА та встановлено межі визначення методом ТШХ. Розроблено нову методику визначення ХА у водах методом ТШХ.

## Методика визначення Хлоридазону в стічних водах методом тонкошарової хроматографії.

В ділильну воронку місткістю 2 л поміщують 1000 мл проби води, додають 100 мл Хлороформу. Суміш струшують на протязі 7 хв. Після розділення нижній шар відокремлюють, а водну фазу струшують ще два рази по 100 мл. Об'єднаний екстракт висушують безводним Динатрій сульфатом (VI). Після висушування екстракт фільтрують через фільтр "синя стрічка" і випарюють Хлороформ (при температурі не вище 50°C). Сухий залишок розчиняють в Ацетоні і наносять на хроматографічну пластинку "Сорбфіл". На цю ж пластинку наносять від 0,3 до 12 мкг ХА у вигляді розчину в Ацетоні і проводять хроматографування в рухомій фазі: Толуен : Етанол : Ацетатна кислота = 5 : 2 : 1. (об. + об. + об.). Після віддалення лінії фронту елюента від лінії старту на 10 см, пластинку виймають, висушують у витяжній шафі при кімнатній температурі та ідентифікують плями ХА.

## Література

1. Сельское хозяйство. БЭС. – М.: Большая российская энциклопедия. – 1998. - 656 с.
2. Танчик С.П. Ефективність систем землеробства в Україні. // Вісник аграрної науки. – 2009, № 12. – С. 5 – 11.
3. Секун М.. Комплексне застосування пестицидів. //Пропозиція. – 2001, № 8 – 9. – С. 66 – 68.
4. Roinested K.S., Lois J.B., Rosen J. D. Determination of pesticides in indoor air and dust // Journal of AOAC international. 1993. N 5 P. 1121 – 1126

5. Квітка Г. Метаморфози санітарного благополуччя. // Пропозиція. 2009, № 10. – С. 24 – 25.
6. Довідник із захисту рослин /Бублик Л.І., Васечко Г.Й., Васильєв В.П. та ін. За ред. акад. УААН Лісового М.П. – К.: Урожай. -1999.- 744 с.
7. Пономаренко С.П. За менших доз пестицидів. //Захист рослин. – 2001, № 11. – С. 5 – 6.
8. Перелік пестицидів та агрохімікатів дозволених до використання в Україні. Офіційне видання. К.: Юнівест Медіа - 2010 -544 с.
9. Ігнат'єва Т. Цукрові Буряки. // Пропозиція. - 2007, № 4. – С. 34 – 35.
10. Клисенко М.А., Александрова Л.Г. Определение остаточных количеств пестицидов. - К.: Здоров'я. – 1983. – 248 с.
11. Гейсс Ф. Основы тонкослойной хроматографии. Пер с англ. В 2-х Т.- Т. 1. – М.: Мир. – 1999.- 348 с.
12. Кирхнер Ю. Тонкослойная хроматография. Пер. с англ. В 2-х т. – Т. 1. М.: Мир. – 616 с.
13. Березкин В.Г. К вопросу об определении современной хроматографии // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2003. – Т. 69. № 5. – С. 25 – 28.
14. Яшин Я.И., Яшин А.Я. Современное состояние хроматографического приборостроения. // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2003. – Т. 69. № 3. – С. 19 – 31
15. Agrawal O.D., Sbirhedkar A.A., Surana S.J. Simultaneous determination of levofloxacin Hemihydrate and ambroxol hydrochloride in tablets by thyn-layer chromatography combined with densitometry. // Журнал аналит. химии. – 2010. – Т. 65, № 4. – С. 430 434.
16. Ratore Hs., Begum. T. Thin-layer chromatographic methods for use in pesticide-residue analysis. // Journal of Chromatography. – 1993. – V. 643. – P. 271 – 290.

## STUDY OF CONDITIONS FOR DETERMINATION OF CHLORIDAZONE BY THE METHOD OF THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY

Maga I.M., Sharga B.M.

The conditions for Chloridazone determination by thin layer chromatography were studied. The maximum extraction of Chloridazone was observed in chloroform at pH 6-8. The toluene/ethanol/acetic acid mixtures (5/2/1, v/v/v) were best for the development of the thin layer chromatography plates. The method for Chloridazone determination into sewage waters was developed in this study.